

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA



“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS ELABORADOS A BASE DE MAÍZ Y HARINA DE TRIGO EN LA FÁBRICA DELICIAS MEXICANAS “DELMEX’S” DE LA CIUDAD DE CUENCA”.

Trabajo de titulación previo a la obtención
del Título de Bioquímico Farmacéutico.

AUTOR:

Calle Siguencia Edwin Leonidas
C.I. 0302247085

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Mariana Elizabeth Saá Cruz
C.I. 0102654522

ASESOR:

Ing. Fidas Said López Mohamed
C.I. 015365251

CUENCA – ECUADOR

2016



RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la calidad microbiológica de alimentos elaborados a base de maíz y harina de trigo (tortillas de maíz, tortillas de harina y totopos) que se producen en la fábrica Delicias Mexicanas “DELMEX´S” de la ciudad de Cuenca.

Se desarrolló un estudio de tipo observacional prospectivo descriptivo. Para el análisis las muestras fueron tomadas tanto en la etapa de manufactura denominada “producto terminado” así como en la etapa denominada “almacenamiento y conservación del producto”, con un total de 30 muestras, a las que se les realizó el análisis de tres requisitos microbiológicos, aerobios mesófilos, mohos y levaduras y coliformes totales/fecales.

Para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras, se utilizó el método de recuento estándar en placa mediante la técnica de Placas Compact Dry, mientras que el análisis de coliformes totales y fecales se realizó según el método de número más probable (NMP). Se realizó el análisis de cada muestra por duplicado, en dos meses consecutivos. El análisis estadístico de los datos se realizó en el programa Microsoft Excel 2013.

Los resultados obtenidos evidencian que los alimentos elaborados en la fábrica Delicias Mexicanas “DELMEX´S” de la ciudad de Cuenca cumplen con los requisitos que establece la NORMA OFICIAL MEXICANANOM-18/-SSA1/SCH-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración, y el REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RCTA 67.04.50.08./Documento final 20-03-09/ Resolución N°. 243-2009 Alimentos- criterios microbiológicos: Subgrupo de alimentos: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas.

Palabras Claves: tortillas, totopos, calidad microbiológica.



ABSTRACT

The present study evaluated the microbiological quality of foods made from corn and wheat flour (corn tortillas, flour tortillas and totopos) produced at the Delicias Mexicanas "DELMEX'S" factory in the city of Cuenca.

A descriptive prospective observational study was developed. For the analysis the samples were taken both in the stage of manufacture called "finished product" as well as in the stage called "storage and preservation of the product", with a total of 30 samples, which were made the analysis of three requirements Microbiological, aerobic mesophiles, molds and yeasts, and total / fecal coliforms.

For the counting of aerobic mesophilic microorganisms and molds and yeasts, the standard plate count method was used using the Compact Dry Plate technique, while the total and fecal coliform analysis was performed according to the most probable number method (MPN). Each sample was analyzed in duplicate, in two consecutive months. Statistical analysis of the data was performed in the Microsoft Excel 2013 program.

The results obtained show that the foods manufactured in the Delicias Mexicanas "DELMEX'S" factory in the city of Cuenca comply with the requirements established in the MEXICAN OFFICIAL NOM-18 / -SSA1 / SCH-2002, Products and services. Mass, tortillas, toasts and flour prepared for processing, and the ATCM ATCM 67.04.50.08./Document final 20-03-09 / Resolution N °. 243-2009 Food - microbiological criteria: Food subgroup: Tamales, tortillas (wheat, corn), pupusas.

Key words: Tortillas, totopos, microbiological quality.



ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
ÍNDICE	4
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTAS DE ANEXOS	7
LISTA DE GRÁFICOS.....	8
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA	9
CLÁUSULA DE DERECHO DE AUTOR	10
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	11
DEDICATORIA.....	12
AGRADECIMIENTOS	13
INTRODUCCIÓN	14
1. MARCO TEÓRICO.....	16
1.1 Calidad de los alimentos	16
1.1.1 Calidad nutritiva.....	16
1.1.2 Calidad de conservación	16
1.1.2.1 Alimentos no perecederos	16
1.1.2.2 Alimentos semiperecederos	16
1.1.2.3 Alimentos perecederos	16
1.1.3 Calidad sensorial.....	17
1.1.4 Calidad higiénica o sanitaria.....	17
1.2 Maíz y productos de maíz	17
1.2.1 Tortillas de maíz	17
1.2.2 Totopos	18
1.3 Harina de trigo y producto de harina de trigo	18
1.3.1 Tortillas de harina de trigo.-	18
1.4 Enfermedades transmitidas por alimentos elaborados a base de maíz y harina de trigo.	19
1.5 Microorganismos indicadores de calidad	19
1.5.1 Aerobios mesófilos	20
1.5.2 Mohos y levaduras.-	21
1.5.3 Coliformes totales y fecales.....	22
1.5.3.1 Coliformes totales.-	22
1.5.3.2 Coliformes fecales.-	22
1.5.3.3 <i>Escherichia coli</i> .-.....	23



2. METODOLOGÍA.....	26
2.1 Tipo de estudio	26
2.2 Muestreo y tamaño de nuestra	26
2.2.1 Muestreo	26
2.2.2 Tamaño de la muestra.....	28
2.3.1 Materiales:.....	30
2.3.2 Equipos:	30
2.3.3 Reactivos requeridos.....	30
2.4 Toma de muestra.....	30
2.5 Tratamiento o preparación de la muestra.....	31
2.6 Métodos y técnicas de análisis microbiológico	31
2.6.1 Recuento Estándar en Placa REP (Técnica Placas Compact Dry)	31
2.6.1.1 REP- Aerobios mesófilos (Total Count).....	31
2.6.1.2 REP- Mohos y levaduras	32
2.6.2 Método del Número Más Probable (MNP) para coliformes totales/fecales .	35
2.6.2.1 Prueba presuntiva para coliformes.....	35
2.6.2.2 Prueba confirmatoria para coliformes totales	36
2.6.2.3 Prueba confirmatoria para coliformes fecales	36
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1 Resultado del REP – Aerobios mesófilos.-	39
3.2 Resultados del REP- Mohos y levaduras.-	41
3.3 Resultado del NMP-Coliformes totales/fecales.-	41
4. CONCLUSIONES.....	44
5. RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	50



LISTA DE TABLAS

Tabla N°- 1: Tipos de microorganismos (bacterias) a diferentes condiciones de tiempo y temperatura de incubación.	21
Tabla N°- 2: Esquema de muestreo en base al riesgo y peligro.	27
Tabla N°- 3: Programa de muestreo y tamaño de la muestra	29
Tabla N°- 4: Resultados (media) del recuento estándar en placa de aerobios mesófilos.	39
Tabla N°- 5: Resultados del número más probable (NMP) para coliformes totales/fecales en los tres tipos de alimentos (tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos) elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca.	42



LISTAS DE ANEXOS

ANEXO A: Autorización para realizar el trabajo práctico en la empresa Delicias Mexicanas.	50
ANEXO B: Certificado de haber realizado las prácticas respectivas para el trabajo de titulación.	51
ANEXO C: Resultados del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto terminado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.	52
ANEXO D: Resultados del análisis duplicado del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto terminado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.	53
ANEXO E: Resultados del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto almacenado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.	54
ANEXO F: Resultados del análisis duplicado del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto almacenado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.	55
ANEXO G: Tabla de conversión para el numero más probable de bacterias, sembrando tres tubos por cada inoculación.	56
ANEXO H: Esquema para apunte de resultados para el análisis de coliformes totales y fecales mediante la método del número más probable.	57
ANEXO I: Extracto de la Norma Oficial Mexicana.	58
ANEXO J: Extracto del Reglamento Técnico Centroamericano. Alimentos: criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.	61
ANEXO K. Registro fotográfico.	63



LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N°- 1: Representación gráfica del recuento estándar en placa de aerobios mesófilos en los tres tipos de productos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, que se producen en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “ DELMEX´S” de la ciudad de Cuenca.40



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

Aw: Actividad acuosa

CO₂: Anhídrido carbónico

E. coli: *Escherichia coli*

g: gramo

h: hora

ICMSF: International Commision on Microbiolial for Food

LST: Lauril sulfato triptosa

ml: mililitro

NMP: Número Más Probable

NOM: Norma Oficial Mexicana

pH: Potencial de Hidrógeno

RCTA: Reglamento Técnico Centroamericano

REP: Recuento estándar en placa

°C: grado Celcius

μm: micra



CLÁUSULA DE DERECHO DE AUTOR



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

EDWIN LEONIDAS CALLE SIGUENCIA, autor del trabajo de titulación **"CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS ELABORADOS A BASE DE MAÍZ Y HARINA DE TRIGO EN LA FÁBRICA DELICIAS MEXICANAS "DELMEX'S" DE LA CIUDAD DE CUENCA"**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicara afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.


Cuenca, 4 de noviembre de 2016

EDWIN LEONIDAS CALLE SIGUENCIA

C.I: 0302247085




CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

 Universidad de Cuenca
Cláusula de propiedad intelectual

EDWIN LEONIDAS CALLE SIGUENCIA, autor del trabajo de titulación "**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS ELABORADOS A BASE DE MAÍZ Y HARINA DE TRIGO EN LA FÁBRICA DELICIAS MEXICANAS "DELMEX'S" DE LA CIUDAD DE CUENCA**", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 4 de noviembre de 2016



EDWIN LEONIDAS CALLE SIGUENCIA
C.I: 0302247085



DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mi madre Ma. Dolores, quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas necesarias para seguir adelante y no desmayar ante las adversidades, por el apoyo incondicional que me ha brindado para culminar una etapa de mi vida.

Al Rvdo. Hno. Ramiro Velasteguí, quien ha sentado en mí las bases de deseos de superación, con su ejemplo y sabios consejos siendo un pilar fundamental e incondicional.

A mis mejores amigos Andrés, Byron, Christian Santiago, quienes han sido mi estímulo para seguir a delante con esta carrera universitaria. Por ultimo a todos mis amigos, compañeros y profesores que de una u otra manera me apoyaron, especialmente en los momentos más difíciles. GRACIAS A TODOS

EDWIN



AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Mariana Elizabeth Saá Cruz, Directora del Trabajo de Titulación, por el tiempo y la atención prestada, motivación y uso de sus conocimientos supo guiarme de manera clara y eficaz, demostrando una vez más su compromiso profesional en el apoyo para la realización de este trabajo y poder culminar esta etapa de formación académica.

Al Ing. Tito Iván Palacios Pérez, gerente general de la Fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S”, al permitirme hacer uso de sus instalaciones del laboratorio demostrando invaluable confianza y apoyo para con este trabajo.

Al Ing. Fidias Said López Mohamed, por su colaboración y asesoría para realizar mi trabajo de titulación, del cual estoy inmensamente agradecido.

A todos mis compañeros y amigos por ser parte de aquellos momentos buenos y malos en la Universidad.

A todos, muchas gracias.....

Edwin C.



INTRODUCCIÓN

Los alimentos juegan un papel muy importante en la vida diaria y por tal motivo es adecuado consumir alimentos con buena calidad sanitaria ya que en el mayor de los casos, los microorganismos utilizan estos alimentos como fuente de elementos nutritivos para su multiplicación, y esto puede dar lugar a la alteración de los alimentos. El deterioro de dichos alimentos no sólo obedece al incremento de microorganismos y a la utilización de sustancias nutritivas, sino también a la producción de cambios enzimáticos que originan modificaciones por degradación o por la síntesis de nuevos compuestos; además estos alimentos sirven como vehículos portadores de enfermedades que en ocasiones pueden ser de consideración ya que son causadas por microorganismos patógenos.(Sandoval , 2009)

Una vez que el alimento está listo para su consumo, su análisis microbiológico puede informar acerca del resultado real de todo el proceso de manipulación y manufactura de dicho alimento, ya que la presencia de microorganismos en los alimentos es una medida de su calidad sanitaria.(DBCA, 2005).

El control sanitario en la preparación de alimentos es determinante para reducir los factores de riesgo que influye en la transmisión de enfermedades por alimentos para proteger la salud del consumidor.(RESPYN, 2005)

Por lo expuesto, se ha visto la necesidad de analizar la calidad microbiológica de alimentos elaborados a base de maíz y harina de trigo (tortillas de maíz, tortillas de harina y totopos) que se producen en la fábrica Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca.

La empresa se encuentra en un proceso de certificación BPM (Buenas Prácticas de Manufactura y ésta requiere un estudio de la calidad microbiológica de los productos que se elabora, ya que este análisis es un requisito para dicha certificación.

Debido a que en nuestro país no existe una normativa para el control de calidad microbiológico de las tortillas y totopos, se consideró necesario realizar un análisis cuya finalidad fue determinar si los alimentos que son expendios para el consumo humano cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos en la: NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-18/-SSA1/SCH-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración, y el REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RCTA 67.04.50.08./Documento final 20-03-09/ Resolución N°.



243-2009 Alimentos- criterios microbiológicos: Subgrupo de alimentos: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas.



1. MARCO TEÓRICO

1.1 Calidad de los alimentos

La calidad de un alimento se define como el conjunto de características que lo hacen agradable, apto y seguro para el consumidor. La calidad debe reunir varios aspectos, como la calidad de nutritiva, lo que permite conservarlos, así como la higiene. (FAO, 2002).

1.1.1 Calidad nutritiva

El fin primordial del consumo de alimentos es nutrir a los seres vivos, es decir, aportar al organismo los nutrientes necesarios para desarrollarse y mantener sus funciones vitales. La calidad nutritiva se refiere a la composición química de un alimento, a su contenido de nutrientes: proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas, minerales y el valor biológico de los mismos. (Weitzman & Maseey, 2010).

1.1.2 Calidad de conservación

Esta se refiere a la aptitud de un alimento para la conservación. De acuerdo con este criterio un alimento es mejor cuanto más tiempo se mantiene con sus cualidades originales y menos condiciones de almacenamiento necesitan. La estabilidad está estrechamente relacionada con la composición del alimento y para esto la cantidad de agua es determinante. (Weitzman & Maseey, 2010).

1.1.2.1 Alimentos no perecederos

No se deterioran a no ser que sean tratados inadecuadamente. Pueden ser almacenados durante largos periodos de tiempo, un año o más debido a su bajo contenido de humedad.

1.1.2.2 Alimentos semiperecederos

Si se cuidan y se almacenan adecuadamente estos permanecerán sin deteriorarse por algún tiempo, de semanas hasta meses.

1.1.2.3 Alimentos perecederos



Se descomponen rápidamente a menos que se les aplique algún método de conservación, ya que su contenido de humedad es muy alto.

1.1.3 Calidad sensorial

Es captada por los sentidos y hace que un alimento sea apetecible o rechazado por el consumidor, es el primer factor de selección de un alimento. Comprende las características organolépticas, es decir, olor, color, sabor, textura, entre otras. (Weitzman & Maseey, 2010).

1.1.4 Calidad higiénica o sanitaria

Es el primer aspecto que debe cumplir un alimento para el consumo. Para lograrla es indispensable la ausencia de toda sustancia nociva, ya sea de origen biológico, físico o químico que puede causar algún trastorno al consumidor a corto o largo plazo. (Weitzman & Maseey, 2010).

1.2 Maíz y productos de maíz

El maíz es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Los granos de maíz están constituidos principalmente de tres partes: la cascarilla, el endospermo y el germen.

La cascarilla o pericarpio es la piel externa o cubierta del grano, que sirve como elemento protector. El endospermo, es la reserva energética del grano y ocupa el 80% del peso del grano. Contiene aproximadamente el 90% de almidón y el 9% de proteínas, y pequeñas cantidades de aceites, minerales y elementos traza. El germen contiene una pequeña planta en miniatura, además de grandes cantidades de energía en forma de aceite, que tiene la función de nutrir a la planta cuando comienza el periodo de crecimiento, así como otras sustancias necesarias durante el proceso de germinación y desarrollo de la planta. (Rodríguez, 2013).

Una ventaja conocida del maíz es que antes de molerlo para hacer las tortillas, se lo remoja en agua con cal y de este modo se lo enriquece con calcio. Por ello en las zonas de alto consumo de maíz son raros los casos de raquitismo. (Iriarte Cota, 2005).

1.2.1 Tortillas de maíz



Se prepara a base de maíz nixtamalizado, proceso por el cual los granos de maíz se cuece en agua hirviendo con una base de cal, dicho proceso hace que el maíz tome una consistencia suave para su fácil digestión y su posterior proceso convertirá los granos en una maza o pasta uniforme con lo cual se preparan las tortillas (Iriarte Cota, 2005).

1.2.2 Totopos

Es el nombre que se le da a las porciones de tortilla que son fritos o tostados hasta que adquieran una textura crujiente, generalmente su forma es triangular y varían de tamaño. (Morales Pérez, 2010).

1.3 Harina de trigo y producto de harina de trigo

Se ha definido la harina de trigo como el producto preparado a partir de trigo común, mediante procesos de trituración o molturación, los cuales eliminan parcialmente el germen, salvado, y el resto es reducido a un grano de finura adecuada.

La composición química de la harina depende del grado de extracción y conforme aumenta éste, disminuye la proporción de almidón y aumenta la cantidad de constituyentes procedentes del salvado. La harina obtenida con rendimiento de molienda más elevado presenta un más alto contenido de proteínas, lípidos, calcio, fósforo, hierro, vitaminas B1, B2 y una menor proporción de glúcidos y calorías.

La harina, es materia prima esencial en la elaboración de pan, galletas, tortillas, debido a que a ciertos parámetros de calidad se adecúan para la manufactura de este tipo de productos. (Andrade Varela, 2006).

1.3.1 Tortillas de harina de trigo.-

Se llama tortilla de harina de trigo al producto sometido a cocción elaborado con harina de trigo, grasa o aceite vegetal, sal comestible, leudante y aditivos (emulsificantes, conservantes) para alimentos.

Las tortillas de harina de trigo de buena calidad deben ser suaves, opacas, flexibles, sin crujir cuando se doblan, con una vida de anaquel larga y estable. (Akdogan.H, 2005).



1.4 Enfermedades transmitidas por alimentos elaborados a base de maíz y harina de trigo.

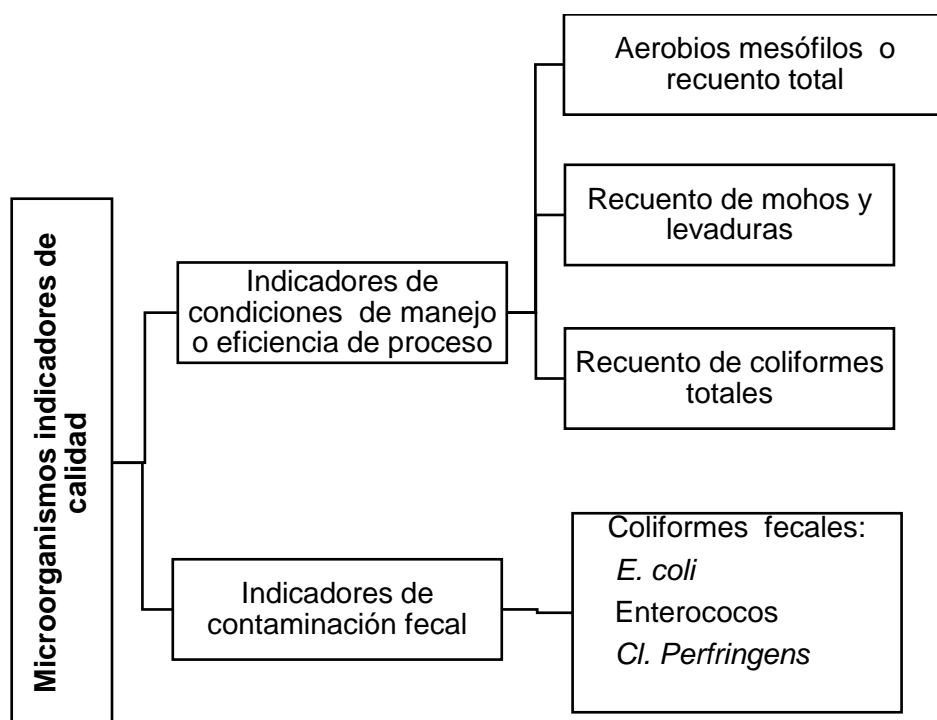
Agentes infecciosos específicos tales como bacterias, mohos y levaduras o sus toxinas pueden estar presentes en los alimentos que pueden producir deterioro de los mismos que al ser ingeridos pueden generar intoxicaciones o infecciones alimentarias. (Álvarez, 2010)

Las enfermedades que pueden transmitir los alimentos elaborados a partir del maíz y de la harina de trigo están relacionadas con microorganismos que utilizan nutrientes como los polisacáridos presentes en estos alimentos, siendo así la contaminación por mohos y levaduras la más frecuente, aprovechando la capacidad de este grupo microbiano de utilizar estos polisacáridos, debido a que tienen enzimas que hidrolizan los compuestos lo cual permite desarrollar y multiplicarse. Además este grupo de microorganismos pueden crecer en condiciones bajas de actividad de agua y pH ácidos. También es importante recalcar que se produjera enfermedades gastrointestinales generada por contaminación de patógenos como *E. coli*, aunque se manifiesta con menor frecuencia. (Legnani, 2013) Los síntomas que presenta un paciente que haya ingerido este tipo de alimento con una posible contaminación son: vómito, diarrea, deshidratación, cefalea, dolor abdominal. Si se ha inhalado las esporas que pueden generar mohos y levaduras se presenta reacciones alérgicas y enfermedades respiratorias. (Calderón, 2002)

1.5 Microorganismos indicadores de calidad

Sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas como su calidad microbiológica. (López, 2011).

Éstos son organismos que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementa el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en los alimentos. A continuación se especifican grupos de microorganismos recomendados en guías y estándares como indicadores de calidad microbiológica, Figura 1.

Figura N°- 1 Microorganismos indicadores de calidad en los alimentos.

Fuente:Tortora.

G.J.https://books.google.es/books/about/IntroduccionC3%B3n_a_la_microbiologiaC3%ADa.html?id=Nxb3iETuwpIC

1.5.1 Aerobios mesófilos

Estas bacterias son el grupo más grande de indicadores de calidad de los alimentos. Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias con capacidad de crecer en un rango de temperatura entre 15 y 45°C, con un óptimo de 35 a 37 °C. La gran mayoría de patógenos humanos son mesófilos, semejantes a la temperatura corporal humana que es de 37°C. (Torre & Cacay , 2012).

En productos terminados son empleados como indicadores de vida útil. El número de microorganismos aerobios mesófilos encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad más utilizado. El recuento de la flora mesófila tiene un valor limitado a la hora de juzgar la inocuidad de los alimentos. Esta determinación permite obtener información sobre la alteración incipiente de los



alimentos, su probable vida útil y fallas en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración. Además, un recuento bajo de aerobios mesófilos no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. (Calderón, 2002), (NOM, 2009).

Según los rangos de temperatura y el tiempo de incubación los métodos de recuento de bacterias viables se clasifican según la Tabla N°1.

Tabla N°- 1: Tipos de microorganismos (bacterias) a diferentes condiciones de tiempo y temperatura de incubación.

Tipo de microorganismo	Tiempo	Temperatura
Psicrófilos	7 días	0-7°C
Mesófilos	1-3 días	30-35°C
Termófilos	1-2 días	56°C
Termodúricos	1 día	63°C

Fuente: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002-20cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

El recuento total permite:

- Verificar la efectividad del procedimiento de limpieza y desinfección.
- Determinar si las temperaturas aplicadas en los procesos fueron las adecuadas.
- Determinar el origen de la contaminación durante los procesos de elaboración de los alimentos.
- Verificar condiciones óptimas de almacenamiento y transporte de los alimentos.
- Obtener información acerca de la vida útil de los alimentos, e indicar alteración incipiente en ciertos alimentos. (Andino, 2010).

1.5.2 Mohos y levaduras.-

La contaminación fúngica de un alimento tiene mucha importancia, no tan solo por su acción de deterioro que malogra materias primas y productos manufacturados, sino también por la capacidad de algunos hongos para sintetizar gran variedad de



micotoxinas, que pueden provocar infecciones e incluso reacciones alérgicas en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos. Por tal motivo para conocer la calidad microbiológica de un producto es pertinente realizar un recuento de hongos y levaduras. (ICBF, 2003).

Las condiciones necesarias para que un hongo crezca en superficies son: existencia de esporas, base nutritiva, humedad y temperatura entre 4 y 38°C.(Jay, 2004)

Los mohos y levaduras son microorganismos eucariotas, pueden ser unicelulares o pluricelulares. Las levaduras son de forma oval (5-20 μm) inmóviles y que se dividen por diversos mecanismos, especialmente por gemación. (ICMSF, 2002)

La identificación de los hongos filamentosos se basa en el examen macroscópico de la colonia y sus características microscópicas. Los parámetros macroscópicos como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos son muy útiles para la identificación. Por lo general la morfología microscópica es estable y presenta pocas variaciones. La identificación definitiva se basa en la forma característica, método de producción y ordenamiento de las esporas, siendo también importante el tamaño y la disposición de las hifas.(Andino, 2010)

1.5.3 Coliformes totales y fecales

1.5.3.1 Coliformes totales.-

Los organismos del grupo son buenos indicadores de la calidad sanitaria de los alimentos procesados y del agua tratada, esto se debe principalmente a que son fáciles de detectar. Estos microorganismos Gram-negativos, aerobios o aerobios facultativos de forma cilíndrica no esporulados se caracterizan por fermentar la glucosa y la lactosa con producción de gas en cultivos a una temperatura de 35-37°C durante un tiempo de incubación de 48 horas. (Astudillo, 2015).

Si se detecta coliformes en los alimentos es indicativo que el proceso de manufactura no tuvo el adecuado control higiénico o posiblemente se produjo contaminación posterior, por lo que al realizar la determinación de bacterias coliformes sirve para monitorear la calidad de los alimentos. (Fuentes A, 2007).

1.5.3.2 Coliformes fecales.-



Los coliformes fecales son organismos que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas en 24 – 48 horas a temperaturas comprendidas entre 44 y 45°C en presencia de sales biliares. Los coliformes fecales comprenden principalmente *Escherichia coli* y algunas cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella*. Su origen es principalmente fecal y por eso se consideran índices de contaminación fecal. Pero el verdadero índice de contaminación fecal es *E.coli* tipo I ya que su origen fecal es seguro. Se ha demostrado que esta bacteria siempre está presente en un número elevado en las heces de humanos y animales de sangre caliente y comprende casi el 95% de los coliformes de las heces. (Andino, 2010).

Estos patógenos podrían representar un riesgo de salud muy importante para bebés, niños pequeños, adultos y personas con sistemas inmunológicos comprometidos. (Tortora, 2007).

1.5.3.3 *Escherichia coli*.-

Comprende bacilos Gram-negativos, no esporulados y con flagelos peritricos en el caso de ser móviles. Los cultivos son anaerobios facultativos, citocromo oxidasa negativa y sensible al cianuro potásico, reducen los nitratos a nitritos. El crecimiento a partir de pequeños inóculos se inicia a un rango de temperatura de entre 9 y 44°C a un pH entre 4,4 y 8,8 y con gradientes salinos de 0-0,65%. Fermentan gran cantidad de azúcares, tales como la arabinosa, el manitol, la glucosa y la xilosa, produciendo una mezcla de ácidos, etanol, CO₂ e hidrógeno.

Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, agua, vegetales y gran variedad de animales. Las investigaciones ecológicas han demostrado que *E. coli* proviene del tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, si bien pueden sobrevivir e incluso multiplicarse en otros nichos apropiados. Por lo tanto, la presencia de esta bacteria indica que puede haber existido contaminación fecal y que el consumidor podría estar expuesto a patógenos entéricos cuando ingiere el alimento.

Se destruyen a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación.

Ciertas cepas de *E. coli* pueden producir enteritis o gastroenteritis, y se agrupan en seis categorías de acuerdo a su mecanismo de patogenicidad.



Entre estas cepas están: *E.coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E.coli* enteroinvasiva (EIEC), *E.coli* enterohemorrágica (EHEC), *E.coli* enteroagregante (EAEC) y *E. coli* difusamente adherente (DAEC). (Vanderzant, 2002) (Pierse & Smoot, 2010).



UNIVERSIDAD DE CUENCA



2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y prospectivo.

2.2 Muestreo y tamaño de muestra

2.2.1 Muestreo

Programa de muestreo de atributos (aceptación o rechazo).- En este tipo de programa, las pruebas microbiológicas están encaminadas a comprobar la presencia o ausencia de un microorganismo para determinar si es inferior o superior a un nivel crítico.(NOM, 2009).

Plan de muestreo para lotes individuales en los que se evalúan características microbiológicas.- Este plan no depende del tamaño del lote (CODEX ALIMENTARIUS, 2000). Para este plan se debe tomar muestras al azar (n) y especificar el número límite de unidades defectuosas que son aceptadas para que el lote no sea rechazado. Esto se denomina número de aceptación (c). El muestreo se realizó en base al riesgo y peligro en los que se evalúa las características microbiológicas, (Tabla N° 2)


Tabla N°- 2: Esquema de muestreo en base al riesgo y peligro.

Clase de peligro	Condiciones normales en las que se supone será manipulado y consumido el alimento luego del muestreo		
	Grado de peligrosidad reducido	Sin cambio de peligrosidad	Aumento de peligrosidad
Sin riesgo directo para la salud (contaminación general, vida útil y alteración)	Categoría 1 n=5 c=3	Categoría 2 n=5 c=2	Categoría 3 n=5 c=1
Riesgo para la salud bajo, indirecto	Categoría 4 n=5 c=3	Categoría 5 n=5 c=2	Categoría 6 n=5 c=1
Moderado, directo, difuso limitado	Categoría 7 n=5 c=2	Categoría 8 n=5 c=1	Categoría 9 n=5 c=1
Moderado, directo, difusión potencialmente extensa.	Categoría 10 n=5 c=0	Categoría 11 n=10 c=0	Categoría 12 n=20 c=0
Grave, directo	Categoría 13 n=15 c=0	Categoría 14 n=30 c=3	Categoría 15 n=60 c=0

Fuente: www.icmsf.org/pdf/FSO%20Objectives/GuiaSimplificadospdf.pdf

En función a lo especificado en la tabla N°2: los alimentos analizados se encuentran situados en la categoría 1 y categoría 4. Esto se debe a que en la categoría 1 según la (ICMSF, 2002) se usan parámetros de estudio que tienen por objeto definir la vida útil y alteración del producto, tales como aerobios mesófilos y mohos y levaduras. Por otra parte en la categoría 4 analiza parámetros donde se encuentran microorganismos indicadores de higiene tales como: coliformes totales y fecales.



Los microorganismos que fueron analizados concuerdan plenamente con lo que especifica el plan y esquema de muestreo, es decir se procedió al análisis de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales/fecales

2.2.2 Tamaño de la muestra

El estudio propuesto se llevó a cabo en la Fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX”S” de la ciudad de Cuenca. En un total de 30 muestras, analizando por duplicado cada una de ellas. Éste plan no depende del tamaño del lote (CODEX ALIMENTARIUS, 2000), por lo que se toma las muestras al azar.

Las muestras fueron tomadas de acuerdo al esquema de muestreo indicado anteriormente (**Tabla N° 2**), el número de muestras fue $n=5$ y $c=3$, que es el número máximo de unidades defectuosas aceptadas para cada tipo de alimento. Por lo tanto en la etapa de elaboración de los alimentos denominada, producto terminado se procedió a la recolección de 5 muestras de tortilla de harina de trigo, 5 muestras de tortilla de maíz y 5 muestras de totopos. De la misma forma se procedió en la toma de muestra para alimentos almacenados. Para el análisis microbiológico se tomó, 5 muestras por cada alimento como se especificó anteriormente, dando un total de 30 muestras, el muestreo se efectuó 2 veces al día: 10:00 am y 14:00 pm, en un periodo de 2 meses consecutivos. Tal como se indica en la **Tabla N° 3**.


Tabla N°- 3: Programa de muestreo y tamaño de la muestra

Producto Terminado	Producto	Semana	Fecha	N° de muestras	Total de muestras por día	Total de muestras por semana	Análisis por duplicado
	Tortillas de maíz	1	06/06/2016	2	2	5	10
			07/06/2016	2	2		
			08/06/2016	1	1		
	Tortillas de harina	2	13/06/2016	2	2	5	10
			14/06/2016	2	2		
			15/06/2016	1	1		
	Totopos	3	21/06/2016	2	2	5	10
			22/06/2016	2	2		
			23/06/2016	1	1		
Producto Almacenado	Tortillas de maíz	4	04/07/2016	2	2	5	10
			05/07/2016	2	2		
			06/07/2016	1	1		
	Tortillas de harina	5	11/07/2016	2	2	5	10
			12/07/2016	2	2		
			13/07/2016	1	1		
	Totopos	6	25/07/2016	2	2	5	10
			26/07/2016	2	2		
			27/07/2016	1	1		
Total de muestras						30	60



Materiales, equipos y reactivos

2.3.1 Materiales:

- Equipo de protección personal (mandil, guantes estériles, zapatones, cofia, mascarilla).
- Funda plástica estéril y hermética.
- Placas Compact dry.
- Tubos tapa rosca 160 x 12mm.
- Vasos de precipitación.
- Probeta.
- Lámpara de alcohol.
- Pipetas: 2ml, 5ml, 10ml.

2.3.2 Equipos:

- Estufa **MEMMERT 30-750**
- Autoclave **AMERICAN STERILIZER B0006482**
- Refrigerador **CMIDEA HS-65L**
- Balanza analítica **TREE HRB303**
- Triturador **HAMILTON BEACH B66-58147**

2.3.3 Reactivos requeridos

- Agua destilada
- Peptona
- Caldo De lauril triptosa sulfato. LST
- Caldo *E. coli* (*Escherichia coli*).

2.4 Toma de muestra

Las muestras para el análisis microbiológico se realizaron en fundas estériles, herméticas fueron etiquetadas y llevadas al laboratorio de prácticas operacionales de la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca para luego ser transferidas en el frasco triturador previamente añadido el diluyente. Para lo cual se obtuvo la respectiva autorización (Anexo A) y el correspondiente documento que certifique el trabajo práctico. (Anexo B)



2.5 Tratamiento o preparación de la muestra

Para la preparación de la suspensión inicial se procedió con 10 gramos de muestra más 90mL de agua de peptona 0,1% en un frasco triturador. Luego se procedió a homogenizar la muestra obteniendo así la dilución primaria o 10^{-1} . Es importante que la temperatura del diluyente sea aproximada a la temperatura de la muestra para evitar lesionar a los microorganismos por los cambios de temperatura que pueda generarse.

De la dilución 10^{-1} , con una pipeta estéril se tomó 1mL y se lo transfirió a un tubo con 9mL de agua de dilución, obteniendo la dilución 10^{-2} . Se prosiguió de la misma forma hasta obtener las diluciones deseadas, que en este caso fueron tres diluciones, es decir, hasta obtener la dilución 10^{-3} .

2.6 Métodos y técnicas de análisis microbiológico

2.6.1 Recuento Estándar en Placa REP (Técnica Placas Compact Dry)

Las placas Compact Dry son un procedimiento sencillo y seguro para la determinación y cuantificación de microorganismos, la inoculación se realiza tomando 1ml de la muestra y se la coloca sobre la placa y se espera aproximadamente 5 minutos hasta que solidifique el gel, se incuba de acuerdo a las prescripciones del prospecto para cada microorganismo a ser analizado. Gracias a los indicadores redox y a los sustratos cromógenos, las colonias bacterianas crecen en colores específicos. (Lab. Microkit, 2007)

2.6.1.1 REP- Aerobios mesófilos (Total Count)

Las placas Compact Dry TC son un medio cromogénico lista para uso en análisis de recuento de bacterias aeróbicas totales viables, contiene medio de cultivo deshidratado y un agente gelificante soluble en agua fría en una matriz no tejida de tela. El medio es hidratado cuando se inocula la muestra, y por acción capilar se difunde la muestra de manera uniforme sobre la matriz para formar un gel. Las colonias que crecen se vuelven de color rojo debido al indicador redox, cloruro de triphenyltetrazolium (TTC). El pH final es de $7,0 \pm 0,2$ a 25°C (Lab. Microkit, 2007)



- **Interpretación de resultados**

Realizar el recuento de todas las colonas independientemente del tamaño e intensidad del color, el número de colonias obtenidas se multiplicara por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo y se dividirá entre la cantidad muestreada. (Lab. Microkit, 2007)

$$REP/g = \frac{N \times fd \times Vd}{Cm}$$

En donde:

N= Número de colonias contadas

fd= factor de dilución

Vd= Volumen de la solución utilizada en el muestreo

Cm= Cantidad muestreada

Los datos obtenidos se recopilaron en hojas proporcionadas por la empresa Delicias Mexicanas “DELMEX”S” de la ciudad de Cuenca. (Anexo C, D, E y F)

2.6.1.2 REP- Mohos y levaduras

Las placas Compact Dry YM son un medio cromogénico listo para uso en el recuento de mohos y levaduras que contiene medio de cultivo deshidratado y un agente gelificante soluble en agua fría en una matriz no tejida de tela. El medio es hidratado cuando se inocula con la muestra, y por acción capilar se difunde la muestra de manera uniforme sobre la matriz para formar un gel. Debido a que estas placas contienen el sustrato cromogénico, 5-bromo-6-cloro-3-indoxilo fosfato (X-Phos) que produce un color azul-verde cuando se utiliza por la mayoría de especie de mohos y levaduras. El pH final es de $5,5 \pm 0,3$ a 25°C . (Lab. Microkit, 2007)

- **Interpretación de resultados**

Realizar el recuento de todas las colonas independientemente del tamaño e intensidad del color, el número de colonias obtenidas se multiplicara por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo y se dividirá entre la cantidad muestreada. (Lab. Microkit, 2007)

$$REP/g = \frac{N \times fd \times Vd}{Cm}$$

En donde:



N= Número de colonias contadas

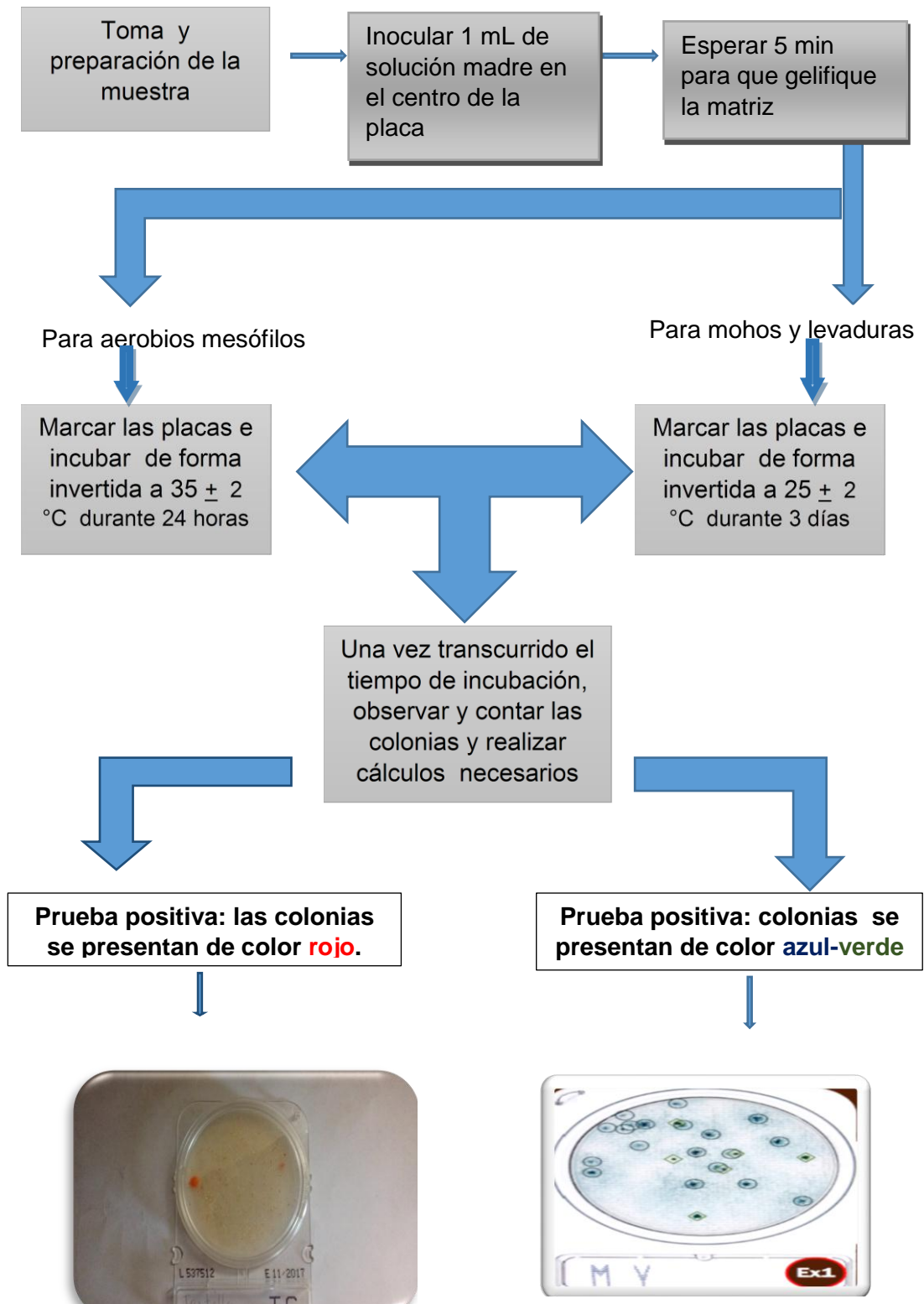
fd= factor de dilución

Vd= Volumen de la solución utilizada en el muestreo

Cm= Cantidad muestreada

Los datos obtenidos se recopilaron en hojas proporcionadas por la empresa Delicias Mexicanas "DELMEX" de la ciudad de Cuenca. (Anexo C, D, E y F)

- **Flujograma de trabajo para REP de aerobios mesófilos, mohos y levaduras**



Fuente: Autor

Fuente: Lab. Microkit, 2007



2.6.2 Método del Número Más Probable (MNP) para coliformes totales/fecales

La determinación de microorganismos *coliformes* totales por el método NMP, se fundamenta en la capacidad de este grupo de microbio de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a 35°C durante 24 horas, utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares. Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa. (NOM, 2009)

En la fase presuntiva el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lauril sulfato de sodio el cual permite la recuperación de microorganismos dañados que se encuentren en la muestra y que sean capaces de utilizar la lactosa como fuente de carbono. Durante la fase confirmativa se utiliza como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante el cual es selectivo y solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante.

La determinación del NMP de microorganismos *coliformes* fecales se realiza a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados a una temperatura de 44.5°C en 24h a 48 horas. (López, 2011)

2.6.2.1 Prueba presuntiva para coliformes

El análisis deberá efectuarse en estrictas condiciones de asepsia.

- Para preparar las diluciones, con una pipeta estéril tomar una alícuota de 1 ml de la muestra original y llevarlo a uno de los tubos que contiene 9 ml de agua de dilución estéril, obteniendo de esta manera la dilución 10^{-1} .
- Agitar el tubo de la dilución 10^{-1} y con otra pipeta estéril tomar una alícuota de 1 ml y llevarlo a otro tubo con 9 ml de agua de dilución estéril, obteniendo de esta manera la dilución 10^{-2} . proceder de la misma manera hasta obtener las diluciones que sean necesarias.
- Inocular asépticamente con 1 ml de muestra a tubos de fermentación que contiene caldo de lauril triptosa.
- Incubar todos los tubos a una temperatura de 35°C durante 24 horas.
- Después de 24 horas de incubación efectuar una primera lectura para observar si hay tubos positivos, es decir, con producción de gas en el interior de la campana Durham, y muestra turbidez. Al hacer esta verificación es importante asegurarse que la producción de gas sea resultado de la



fermentación de la lactosa en cuyo caso se observa turbidez, y no confundir con burbujas de aire.

- Para evitar este tipo de confusiones es recomendable revisar las campanas Durham y desechar las que presenten aire.
- De los tubos que en la primera lectura den positivos, ya se pueden hacerlas pruebas confirmatorias para *coliformes* totales y *coliformes* fecales.
- En caso de apreciarse crecimiento en el resto de tubos, continuarán en incubación 24 horas más.
- Después de 48 horas a partir de la inoculación, se hace la lectura final.

Interpretación

Si el total de tubos son negativos: El examen se da por terminado reportando la **AUSENCIA DE COLIFORMES TOTALES Y FECALES** en la muestra analizada.

Todos aquellos tubos que den positivos para prueba presuntiva se anotarán convenientemente y se procederá a realizar la prueba confirmatoria para *coliformes* totales y fecales. (López, 2011)

2.6.2.2 Prueba confirmatoria para coliformes totales

- A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, agitándolos para homogenizar, inocular en un tubo con caldo lactosa bilis verde brillante.
- Incubar durante 48 horas a 35°C
- Después de la incubación observar la presencia de turbidez y de gas. (López, 2011)

Interpretación

Si se observa turbidez y producción de gas: La prueba se considera Positiva, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.

Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aún cuando se observe turbidez: se considera negativos, estableciéndose el **Código 0,0,0** para el cálculo del NMP. (López, 2011) (Anexo G)

2.6.2.3 Prueba confirmatoria para coliformes fecales



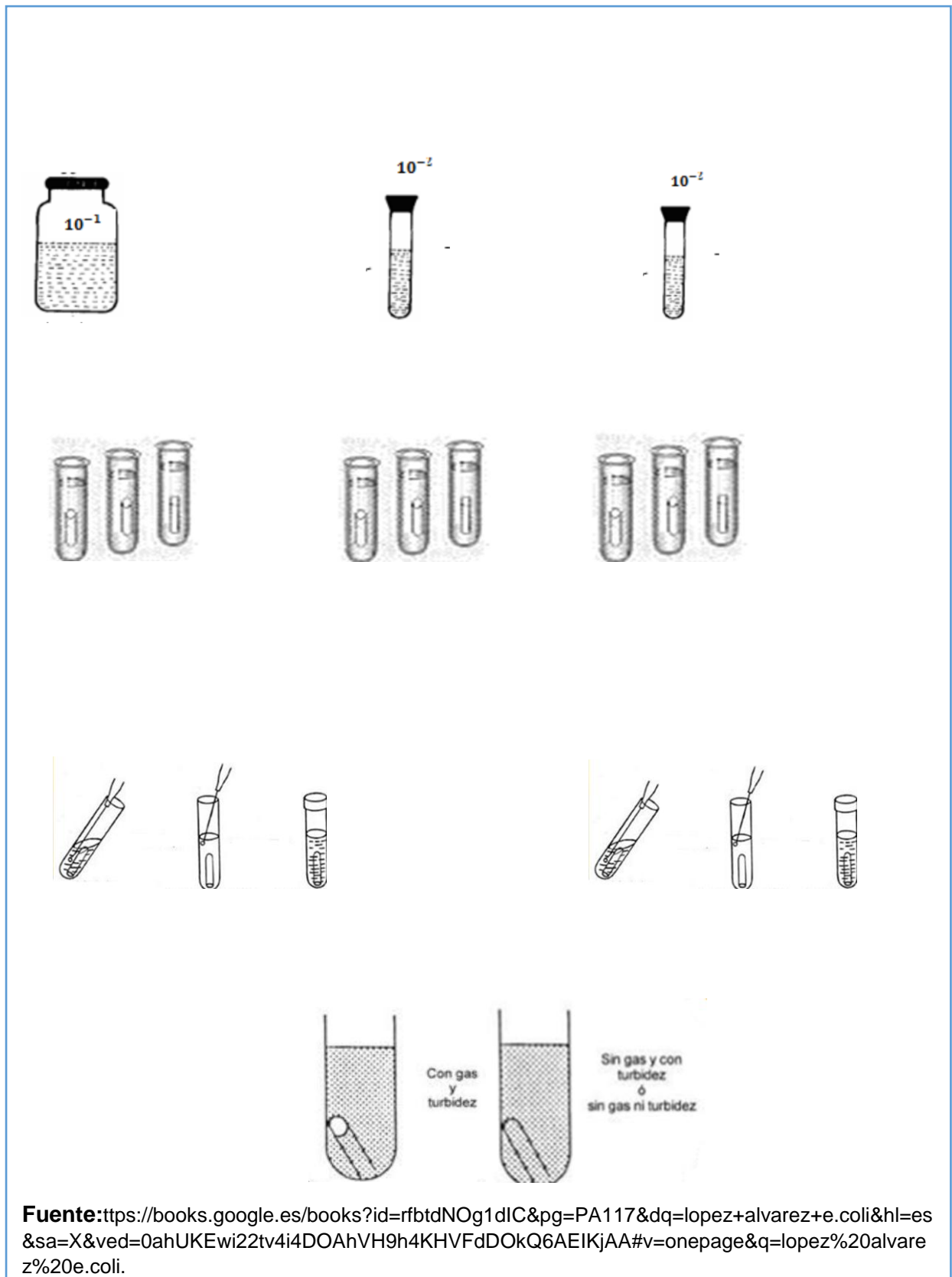
- A partir de cada uno de los tubos que han resultado positivos en la prueba presuntiva, agitándolos para homogenizar, inocular en tubos que contiene caldo E.C. (*Escherichia coli*)
- Incubar durante 24 horas a 44.5°C y después de este periodo, observar presencia de turbidez y gas. (López, 2011)

Interpretación

Si se observa turbidez y producción de gas: La prueba se considera Positiva, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.

Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez: Se considera Negativos, estableciéndose el **Código 0,0,0** para el cálculo del NMP. (López, 2011) (Anexo G)

Los resultados se recopilan tal como se indica en el Anexo H.



Fuente: <https://books.google.es/books?id=rftbdNOg1dIC&pg=PA117&dq=lopez+alvarez+e.coli&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi22tv4i4DOAhVH9h4KHVFdDOKQ6AEIKjAA#v=onepage&q=lopez%20alvarez%20e.coli>

- **Flujograma de trabajo para el método del NMP.**



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultado del REP – Aerobios mesófilos.-

A continuación en la tabla N° 4 se detalla los resultados del análisis microbiológico por duplicado para aerobios mesófilos realizado en los tres tipos de alimentos que son: tortilla de harina, tortilla de maíz, totopos, en la etapa de producción denominada como producto terminado.

Tabla N°- 4: Resultados (media) del recuento estándar en placa de aerobios mesófilos.

PRODUCTO TERMINADO	REP-AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g		
	Media		
	Tortilla de harina	Tortilla de maíz	Totopos
Muestra #1	9,8590604	3,48568501	0,45
Muestra #2	5,3244718	5,3244718	0,45
Muestra #3	4,0249223	0,45	0,45
Muestra #4	1,5588457	0,45	0,45
Muestra # 5	2,8460499	1,27279221	0,45

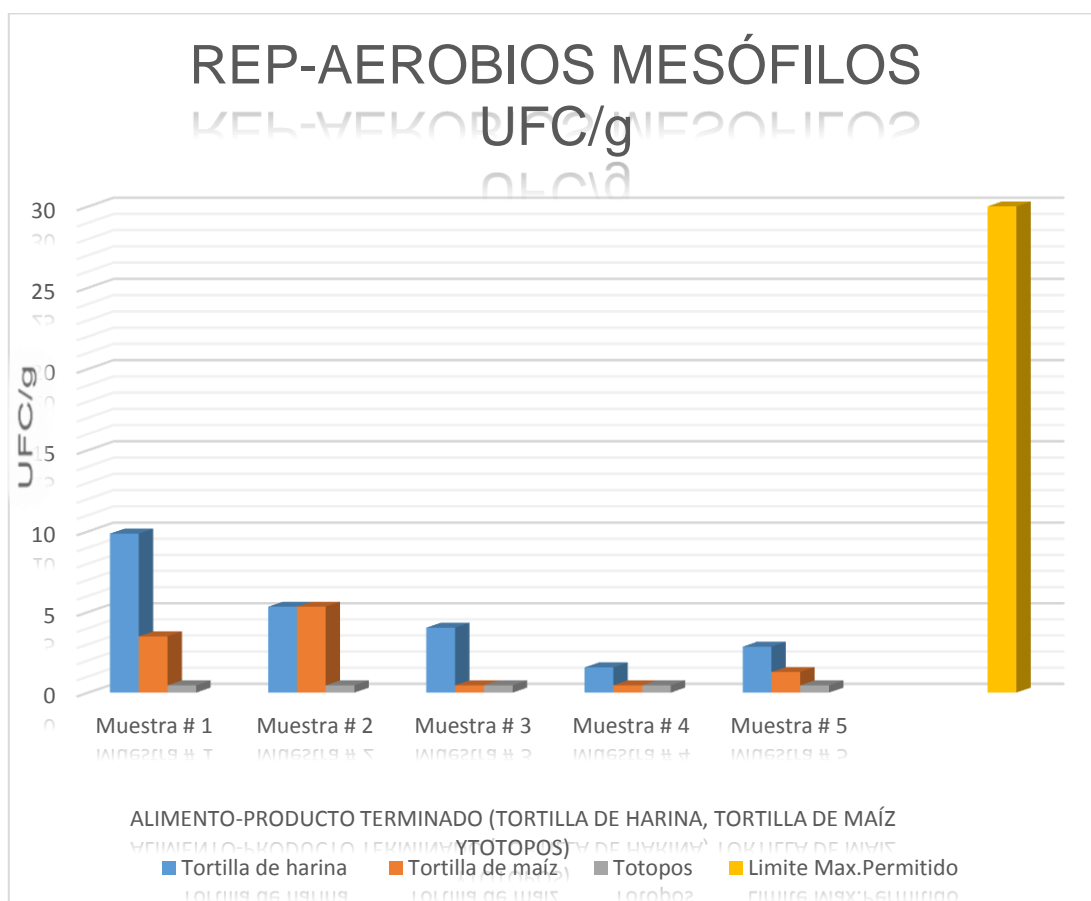
Según lo especificado en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-18/-SSA1/SCH-2002, de productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración con respecto al recuento estándar en placa para aerobios mesófilos el límite máximo permitido es de 30 UFC/g, es decir el nivel de aceptación es $m \leq 30 \text{ UFC/g}$

Entonces de acuerdo a la tabla N° 4. los productos: tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, que se producen en la fábrica Delicias Mexicanas de la ciudad de Cuenca cumplen con el requisito microbiológico establecido para el recuento de aerobios mesófilos, los resultados obtenidos están por debajo del límite máximo permitido. (Anexo C).

En promedio el recuento de aerobios mesófilos para cada muestra de los tres tipos de alimentos analizados en la etapa de producto terminado es similar, cabe recalcar que el recuento de estos microorganismos en las tortillas de harina de trigo tiene mayor

presencia (**Gráfico N°1**); siendo una de las posibles causas para desencadenar un crecimiento mayor de esta flora microbiana, la actividad de agua (a_w) que presenta las tortillas de harina de trigo en relación a las tortillas de maíz y los totopos (Akdogan.H, 2005), ya que si las condiciones de a_w son favorables, se lleva a cabo la mayoría de las reacciones químicas, enzimáticas y las transformaciones hidrolíticas necesarias para que un organismo crezca y se desarrollen adecuadamente. (Flores, 2000)

Gráfico N°- 1: Representación gráfica del recuento estándar en placa de aerobios mesófilos en los tres tipos de productos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, que se producen en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “ DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca.



Fuente: Autor

Cabe destacar que la actividad acuosa (a_w) y la humedad inferior en las tortillas de maíz y los totopos, respecto a las tortillas de harina de trigo se debe a que la materia prima que se utiliza para la producción de estos alimentos es sometido a un proceso térmico-alcalino muy fuerte, conocido como nixtamalización del maíz que consiste en cocer el maíz agregando óxido de calcio (cal), acto seguido se calienta hasta 80°C



por 20 a 45 minutos, después se deja reposar por un lapso de 12 a 14 horas con la finalidad de extraer el maíz cocido del nexajote (agua de cocción), ya sea por extracción manual o por decantación. Posteriormente se lava el maíz para eliminar el exceso de óxido de calcio que pueda estar adherido a la materia prima. En este proceso de nixtamalización la materia prima sufre un efecto de deshidratación el cual reduce la probabilidad de que las tortillas de maíz y los totopos presenten agua en cantidades que pueda favorecer el crecimiento de microorganismos, (Agama, 2001), con respecto a los totopos la actividad acuosa es inferior a 0,5, valor al cual no se produce proliferación microbiana. (Bauchat, 1981).

Esto se debe porque además de experimentar el efecto de deshidratación que sufre la materia prima, la masa obtenida por molienda que se utiliza para producir el alimento es sometida a primero a un proceso cocción y luego a un proceso de freído a elevadas temperaturas, que implica la eliminación de gran cantidad de agua presente en dicha masa, por lo tanto el desarrollo de microorganismos en las tortillas de maíz y totopos va a disminuir o en su defecto no exista un ambiente propenso para el crecimiento y proliferación de estas bacterias. Ver gráfico N°1 .Lo que indica que si hay contaminación será debido a causas o factores externos como: suelo y ambiente contaminado o en su defecto por malas prácticas de manufacturas. (Higuera, 1995)

3.2 Resultados del REP- Mohos y levaduras.-

Respecto al recuento estándar en placa para mohos y levaduras, la presencia de estos microorganismos es nula (ANEXOS C y D), ya sea para alimentos elaborados a base de harina de trigo, así como para los alimentos que tienen como materia prima el maíz (totopos y tortillas de maíz), indicando de esta manera que los productos analizados no se encuentran contaminados.

Según Price y Jorgensen (1995), el proceso de cocción en agua de cal disminuye los niveles de mohos y levaduras que pueden llegar a estar presentes en la masa del maíz, además de los procesos térmicos descritos anteriormente a los que es sometido el alimento coadyuvan a que estén exentos de estos microorganismos.

3.3 Resultado del NMP-Coliformes totales/fecales.-

Concerniente a los resultados obtenidos (Anexo H) en los análisis para coliformes totales y fecales mediante la técnica del número más probable, se da a conocer que no existe contaminación alguna en los alimentos procesados, cumpliendo así con el requisito especificado en el Reglamento Técnico Centroamericano. Ver tabla N° 5



Tabla N°- 5: Resultados del número más probable (NMP) para coliformes totales/fecales en los tres tipos de alimentos (tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos) elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca.

PRODUCTO TERMINADO	NMP- COLIFORMES TOTALES/FECALES NMP/g					
	Tortilla de harina		Tortilla de maíz		Totopos	
	Det 1.	Det 2.	Det 1.	Det 2.	Det 1.	Det 2.
Muestra #1	0	0	0	0	0	0
Muestra #2	0	0	0	0	0	0
Muestra #3	0	0	0	0	0	0
Muestra #4	0	0	0	0	0	0
Muestra#5	0	0	0	0	0	0

Los resultados obtenidos en este trabajo, se puede comparar con estudios realizados en Maracay- Venezuela, estado de Aragua,(Chavarri, 2013) que manifiesta el motivo por el cual no existe viabilidad de estos microorganismos en los alimentos y es la correcta y adecuada aplicación de los proceso térmicos a los cuales es sometida la masa de maíz, o la masa de harina de trigo, un aspecto fundamental para la no presencia de microorganismos es la debida aplicación de políticas de higiene y de la adecuada aplicación de las buenas prácticas de manufactura, en la fábrica se ha observado que todo el personal cumple con estas políticas de higiene que son requeridas por el proceso de certificación BPM.

Un aspecto que quizá debe ser tomado en cuenta para la elaboración de alimentos procesados a escala industrial, es la correcta delimitación y ubicación de las áreas de trabajo para cada una de las etapas por las que tiene que pasar los componentes de la masa y la masa en sí, hasta obtener el alimento denominado producto terminado, evitando que se produzca una contaminación cruzada durante la producción de las tortillas, totopos.(Moragas, 2015)

Con respecto al análisis microbiológico de los alimentos, tortillas de harina, tortillas de maíz y totopos, en la etapa de almacenamiento, los resultados obtenidos son



convincientes al demostrar que no existe crecimiento de ningún tipo de microorganismo, demostrando así que se cumple con los requisitos especificados anteriormente, y denota que las condiciones de almacenamiento a 4 °C temperatura a la cual son sometidos los productos en la fábrica “DELMEX’S” son adecuados para mantener una vida de anaquel más prolongada; esto es comparable con otros estudios como el que se realizó en la Universidad Guanajuato, Gto. La Facultad de Ciencias Biológicas,(Gonzalez, 2010) realizó un proyecto de investigación, para el análisis microbiológico y proximal de la tortilla convencional durante la vida de anaquel cuyo objetivo fue evaluar el cambio microbiológico y proximal de la tortilla convencional para estimar la vida de anaquel. La temperatura con la que se experimentó el almacenamiento del producto fue de 10°C, los resultados indicaron que al segundo día de almacenamiento la tortilla ya presentó una carga microbiana mínima, pero a los 8 días la tortilla presentaba una carga microbiana fuera de los límites permisibles. Posterior al experimento realizado a 10 °C, se procedió a disminuir la temperatura de almacenamiento de estos alimentos a 4°C, lo que conlleva a alargar la vida de anaquel alrededor de 35 días,(Vera, 2010).



4. CONCLUSIONES

Luego de haber culminado con el análisis microbiológico de los alimentos elaborados en la fábrica Delicias Mexicanas se puede concluir los siguientes aspectos:

Los alimentos (tortillas de harina, tortillas de maíz y totopos) elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca, cumplieron con los parámetros microbiológicos de la NOM-18/-SSA1/SCH-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración, y el REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RCTA 67.04.50.08./Documento final 20-03-09/ Resolución N°. 243-2009 Alimentos- criterios microbiológicos: Subgrupo de alimentos: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusa, por lo tanto los lotes son aceptados.

Los alimentos en etapa de producto terminado, cumplen con los requisitos microbiológicos de contaminación fecal.

Los alimentos en etapa de producto almacenado, cumplen con los requisitos microbiológicos, por lo que se concluye que los lotes son aceptados.

Finalmente podemos concluir que en la manufactura de los productos que son: tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos se cumple con las políticas de higiene que se establecido en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas “DELMEX’S” de la ciudad de Cuenca.



5. RECOMENDACIONES

1. Realizar el análisis microbiológico de superficies vivas e inertes, así también realizar un control microbiológico de ambientes y del agua, de tal manera que si existiese contaminación de los productos se pueda determinar oportunamente la causa o la fuente de contaminación.
2. Para dar continuidad y utilidad a este trabajo se recomienda elaborar y ejecutar en plan o cronograma de muestreo de productos por lotes, tanto en etapa de producto terminado, como en etapa de producto almacenado, para de esta forma evaluar periódicamente su calidad higiénica o sanitaria y por ende dar o no aceptación del o de los lotes analizados de acuerdo a los criterios microbiológicos que se han tomado en cuenta para este estudio.



BIBLIOGRAFÍA

- Agama, M. (2001). *Propiedades químicas, fisicoquímicas y reológicas de masa y harina de maíz nixtamalizado*. Centro de desarrollo de productos bióticos. Yautepa, Morrelos México. Citado 7 de octubre de 2016. Disponible en: www.udm.mx.../microbiologia/.../04_Sj9CPykssy0xPLMnMz0vMAfijo8ziLSydj.
- Akdogan, H.& Lookhart. G (2005). *Textural properties of comercial wheat flour tortillas during storage*. IFT Annual Meeting. New Orleans. Lousiana. USA. Citado 12 de julio de 2016. Disponible en: aaccipublications.aaccnet.org/doi/pdf/10.1094/CC-83-063
- Alvarez, V. (2010). *Vigilancia y control de enfermedades transmitidas por alimentos*. Instituto Nacional de Salud. Bogotá- Colombia. Citado 10 de octubre de 2016. Disponible en: www.controlsanitario.gob.co/.../carmen-irene-altuna-alvarez-analista-zonal-de-vigilancia.
- Andino, F. M. (2010). *Curso: Microbiología de los alimentos-Inocuidad Alimentaria*. UNI. Universidad Nacional de Ingeniería del Norte. Sonora. México Citado 30 de mayo de 2016. Disponible en: <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiología.pdf>.
- Andrade, T. (2006). *Evaluación de la calidad de harinas de trigo*. Instituto Tecnológico de Sonora. CD. Obregón, Sonora. México. Citado 17 de julio de 2016. Disponible en: biblioteca.itson.mx/dac_new/tesis/13_maria_andrade.pdf.
- Astudillo, A. (2012). *Manual de prácticas de microbiología e higiene de alimentos*. Cuenca. Universidad de Cuenca. Citado 20 de septiembre de 2015.
- Cacay, B., Torres, P. (2012). *Calidad microbiologica de bebidas frias*. Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador. Citado 7 de mayo de 2016. Disponible en : dspace.ecuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2474/1/tq1116.pdf.
- Calderón, G. (2002). *Estudio de caso-enfermedad transmitido por alimentos*. El Salvador. Citado 7 de octubre de 2015. Disponible en: www.boe.es › BOE › 28/11/2001.
- Camacho, A. G. (2009). *Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP)*. . Citado 23 de marzo de 2016. Rescatado de F.
- Chavarri, M. (2013). *Detección de microorganismos en maíz molido y producto derivado comercializado en Maracay*. Universidad Central de Venezuela. Aragua- Venezuela. Citado 11 de octubre de 2016. Disponible: www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttex.
- COMISIÓN INTERNACIONAL PARA LA ESPECIFICACIÓN MICROBIOLOGICA DE ALIMENTOS (ICMSF,). (2002). Citado 16 de octubre de 2015. Disponible en: <http://www>



international+commission+on+microbial+food&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjGl8K4jIDOA hXMFR4KHZCuAMcQ6AEIKzAC#v=onepag.

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS ALIMENTARIAS.(2005). *Calidad sanitaria de alimentos. Mexico* Citado 23 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.itson.mx/>ITSON>UNIVERSIDAD>.

Díaz, L. (2001). *Nutrición e higiene de alimentos. Principios de higiene de alimentos. Navarra, España. Citado 20 de julio de 2016. Disponible en: www.unavarra.es/genmic/curso microbiología general/16-higiene de los alimentos.htm.*

FAO. (2002). *Sistema de calidad e inocuidad de alimentos. España. Citado 9 de octubre de 2015. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/005/W8088SHTM.*

Flores.C. (2000). *Determinación y caracterización de microorganismos presentes en la masa para tortillas de maíz en tortillerías del municipio de Saltillo, Coahuila. Laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Químicas de la UA de C. Coahuila- México. Citado 1.*

Fuentes, F. C.-B.-M. (2007). *Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón, Sonora, México. Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Sonora, México. Citado 22 de mayo de 2016. Disponible en: Vwww.itson.mx/sanida.*

Higuera, I. (1997). *Conservación y estabilidad de la tortilla de maíz. Aspectos microbiológicos del maíz y la tortilla. Guatemala. Citado 9 de octubre de 2016. Disponible en: bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript...xis..*

INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. (2003). *Normas de calidad, microbiología de alimentos y bebidas. Colombia. Citado 13 de mayo de 2016. Disponible en: http://www.bna-sa.com.co/normas/ alimentos y bebidas.html. Disponible en: www.bvs-vspcol.bvsalud.org/cgi-bin/wxis.exe/iah/.*

INTERNATIONAL COMISION ON MICROBIAL FOR FOOD. (2000). *Microorgansimos de los alimentos y su significado, Zaragoza, Acriba s.a. Citado 29 de abril de 2016. Disponible en: https://books.google.es/books?id=Yy_oBodctoIC&pg=PA734&dq=international+commission+on+microbial+food&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjGl8K4jIDOA hXMFR4KHZCuA.*

Iriarte, C. (2005). *Elaboración de tortillas de maíz enriquecida con harina de amaranto reventado. CD. Obregón. Sonora. México. Citado 17 de julio de 2016. Disponible en: http://biblioteca.itson.mx/dac_new/tesis/199_alex_sandoval.pdf.*

Jay, J. (2004). *Microbiología moderna de alimentos. Acriba S.A. Zaragoza. España. Citado 18 de mayo de 2016. Disponible en: https://books.google.es/books?id=oCYzQQAACAAJ&dq=jay+j++microbiologia+moderna&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjRn5nei4DOAhVI1h4KHxu7BH8Q6AEIKzAB.*

Laboratorio, Microkit, I. (2007). *Método para detección de microorganismos. Madrid, España. Citado 19 de julio de 2016. Disponible en:*



https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/CompactDryTC.html.

- Legnani, M. (2013). *Importancia de los coliformes en los alimentos*. Uruguay. Citado 6 de octubre de 2016. Disponible en: www.montevideo.gub.uy/sites/.../importancia_de_los_coliformes_en_los_alimentos.p..
- López-Álvarez. (2011). *Escherichia coli: mecanismos de patogenicidad*. Departamento de bacteriología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México. Citado 14 de mayo de 2016. Disponible en: <https://books.google.es/books?id=rftbdNOg1dIC&pg=PA117&dq=lopez++e.coli&hl=es&sa=X&vedahUKEwi22tv4i4DOAhVH9h4KHVFdDOKQ6AEIKjAA#v=onepage&q=lopez%20alvarez.e.coli>
- Moragan, M. (2015). *Microbiología de los alimentos y asimilados (superficies, agua, aire) y otros parámetros de interés sanitario*. Bilbao- España. Citado 12 de octubre de 2016. Disponible en: www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema_08_%20micro_alimentos.pdf.
- Morales, J. (2010). *Estudio de las propiedades de las tortillas tostadas*. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas, Puebla. México. Citado 12 de julio de 2016. Disponible en: www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-
- NOM-008-SCFI (2009). *Reglamento de control sanitario de productos y servicios*. Departamento de biotecnología y ciencias alimentarias. Calidad sanitaria de alimentos. Norma Oficial Mexicana. México. Citado 30 de abril de 2016. Disponible en: www.dof.gob.mx/nota_to_doc.php?codn=5247870.
- NOM-109-SSA1. (2009). *Bienes y servicios. Procedimientos para la elaboración, toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico*. Norma Oficial Mexicana. México. Citado 22 de diciembre de 2015. Disponible en: www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html.
- NOM. -18/-SSA1/SCH(2002). *Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración*. México. Citado 10 de septiembre de 2015. Disponible en: www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/187ssa1scfi02.html.
- OMS. (2010).. *Higiene y manipulación*. Citado 28 de abril de 2016. [En línea] . Disponible en: <http://www.centraldesalud.es/higiene-y-manipulaci%C3%B3n>.
- Pierson, M. & Smoot, L. (2010). *Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria*. In: *Food Microbiology. Fundamentals and frontiers*. ASM Press. USA. Citado 10 de julio de 2016. Disponible en: https://www.google.com.ec/?gfe_rd=cr&ei=Y7yDV8eVkZngBw&gws_rd=ssl#q=higiene+de+alimentos+p.
- Ramos, A. (2012). *Microbiología de la industria alimentaria*. Centro universitario "DE LOS ALTOS". Guadalajara - México. Citado 12 de septiembre de 2015. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/consumer/manual_keys_es.pdf.




- RTCA.67.04.50.08/. (2009). *Documento final 20-03-09/ Resolución N°. 243-2009 Alimentos- criterios microbiológicos: Subgrupo de alimentos: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas*. Citado 4 de marzo de 2016. Disponible en: www.mspas.gob.gt/files/Descargas/.../RTCA%20Criterios%20Mi.
- RESPYN. (2005). *Calidad Sanitaria de Alimentos*. Revista de salud pública y nutrición. Sonora. México. Citado 08 de octubre del 2016. Disponible en: www.respyn.uanl.mx/vi/1/ensayos/SA_Determinantes_y_PP.htm.
- Rodríguez, J. (2013). *Comportamiento agronómico de cinco híbridos de maíz (Zea mays) en estado de choclo a dos distancias de siembra*. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Agrarias. Guayaquil- Ecuador. Citado 20 de julio de 2016. Disponible en: repositorio.ug.edu.ec/bTesis%20en%20Maíz%20Jaime%20Rodriguez.pdf.
- Sandoval, A. (2009). *Evolución fisicoquímica y microbiológica del agua y alimentos*. DIEP del Instituto Tecnológico de Sonora. México. Citado 23 de julio de 2016. Disponible en: www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid...18442009001200009.
- Tortajada, F., Castell, G., Tornero, B., Gimeno, C. (2001). *Micotoxinas y cáncer pediátrico*. Valencia, España. Citado 27 de mayo de 2016. Disponible en: <http://db2.doyma.es/pdf/126/126v57n03a13017206pdf001.pdf>.
- Tortora, G. (2007). *Introducción a la microbiología. Enterobacterias-E.coli*. Médica Panamericana. Buenos Aires. p 259. Argentina. Citado 12 de mayo de 2016. Disponible en: https://books.google.es/books/about/IntroduccionC3%B3n_a_la_microbiologiaC3%ADa.html?id=Nxb3iETuwpIC.
- Vanderzant, C., Splittstoesser, D. (2010). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food*. 3 ed. Washington, D. C. American Public Health Association Inc. Unit States. Citado 20 de mayo de 2016. Disponible en: https://books.google.es/books?id=1b1CAgAAQBAJ&pg=PA137&lpg=PA137&dq=vanderzant+c;+splittstoesser+microbiologi&source=bl&ots=myL2ipOy37&sig=GBhQ1JMNbyaruvj5MVBD6_W_ii8&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiilZO1ioDOAhWB9x4KHSfVCXQQ6AEIMTAB#v=onepage&q=vanderzant%20c%3B%20splittstoesser%20microbiologi.
- Weitzman, I., & Massey, J. (2001). *Investigation of foodborne illness outbreak*. Compendium of Metfodos for the Microbiological Examination of Food. Washington, DC. USA. Citado 10 de julio de 2016. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/resp/v72n1/alimentos.pdf>.



ANEXOS

ANEXO A: Autorización para realizar el trabajo práctico en la empresa Delicias Mexicanas.


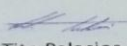


Cuenca 01 de junio de 2016

A quien corresponda:

Por medio de la presente yo TITO IVÁN PALACIOS PÉREZ, Gerente General de la empresa DELMEX'S Delicias Mexicanas; autorizo al Sr. Edwin Leonidas Calle Siguencia CI #030224708-5 a realizar el trabajo práctico de su proyecto de titulación en nuestra empresa, durante los meses de Junio y Julio del presente año.

Atentamente;



Ing. Tito Palacios P.
Gerente General
DELMEX'S Delicias Mexicanas



ANEXO B: Certificado de haber realizado las prácticas respectivas para el trabajo de titulación.



Cuenca 09 de noviembre de 2016

A quien corresponda:

Por medio de la presente yo TITO IVÁN PALACIOS PÉREZ, Gerente General de la empresa DELMEX'S Delicias Mexicanas; certifico que Sr. Edwin Leonidas Calle Siguencia CI #030224708-5 realizó las prácticas de su proyecto de titulación en nuestra empresa, durante los meses de Junio y Julio del presente año.

Atentamente;



Ing. Tito Palacios P.
Gerente General
DELMEX'S Delicias Mexicanas





ANEXO C: Resultados del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto terminado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.

PRÁCTICAS OPERACIONALES										Código:	BPM -
CONTROL DE MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTO, SUPERFICIES Y AMBIENTES										Revisión:	0
										Vigencia:	
FECHA	MUESTRA	LOTE	REP	S. AUREUS	E. COLI	SALMONELLA	LISTERIA	MOHOS Y LEVADURAS	OBSERVACIONES	ELABORADO POR	
06/06/2016	tortilla maíz (1)		12					0		E. Calle	
06/06/2016	tortilla maíz (2)		7					0		E. Calle	
07/06/2016	tortilla maíz (3)		4					0		E. Calle	
07/06/2016	tortilla maíz (4)		3					0		E. Calle	
08/06/2016	tortilla maíz (5)		5					0		E. Calle	
13/06/2016	tortilla harina (1)		5					0		E. Calle	
13/06/2016	tortilla harina (2)		5					0		E. Calle	
14/06/2016	tortilla harina (3)		0					0		E. Calle	
14/06/2016	tortilla harina (4)		0					0		E. Calle	
15/06/2016	tortilla harina (5)		1					0		E. Calle	
21/06/2016	totopos (1)		0					0		E. Calle	
21/06/2016	totopos (2)		1					0		E. Calle	
22/06/2016	totopos (3)		0					0		E. Calle	
22/06/2016	totopos (4)		0					0		E. Calle	
23/06/2016	totopos (5)		2					0		E. Calle	

REVISADO POR: _____



ANEXO D: Resultados del análisis duplicado del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto terminado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.

PRÁCTICAS OPERACIONALES									Código:	BPM -
CONTROL DE MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTO, SUPERFICIES Y AMBIENTES									Revisión:	0
									Vigencia:	
FECHA	MUESTRA	LOTE	REP	S. AUREUS	E. COLI	SALMONELLA	LISTERIA	MOHOS Y LEVADURAS	OBSERVACIONES	ELABORADO POR
06/06/2016	tortilla maíz (1)		10					0		E. Calle
06/06/2016	tortilla maíz (2)		05					0		E. Calle
04/06/2016	tortilla maíz (3)		05					0		E. Calle
07/06/2016	tortilla maíz (4)		01					0		E. Calle
08/06/2016	tortilla maíz (5)		02					0		E. Calle
13/06/2016	tortilla harina (1)		05					0		E. Calle
13/06/2016	tortilla harina (2)		05					0		E. Calle
14/06/2016	tortilla harina (3)		0					0		E. Calle
14/06/2016	tortilla harina (4)		0					0		E. Calle
15/06/2016	tortilla harina (5)		01					0		E. Calle
21/06/2016	totopos (1)		01					0		E. Calle
21/06/2016	totopos (2)		0					0		E. Calle
22/06/2016	totopos (3)		0 1					0		E. Calle
22/06/2016	totopos (4)		0					0		E. Calle
23/06/2016	totopos (5)		0					0		E. Calle



ANEXO E: Resultados del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto almacenado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias Mexicanas.

PRÁCTICAS OPERACIONALES									Código:	BPM -
CONTROL DE MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTO, SUPERFICIES Y AMBIENTES									Revisión:	0
									Vigencia:	
FECHA	MUESTRA	LOTE	REP	S. AUREUS	E. COLI	SALMONELLA	LISTERIA	MOHOS Y LEVADURAS	OBSERVACIONES	ELABORADO POR
04/07/2016	tortilla maíz (1)		0					0		E. Calle
04/07/2016	tortilla maíz (2)		0					0		E. Calle
05/07/2016	tortilla maíz (3)		0					0		E. Calle
05/07/2016	tortilla maíz (4)		0					0		E. Calle
06/07/2016	tortilla maíz (5)		0					0		E. Calle
11/07/2016	tortilla harina (1)		0					0		E. Calle
11/07/2016	tortilla harina (2)		0					0		E. Calle
12/07/2016	tortilla harina (3)		0					0		E. Calle
12/07/2016	tortilla harina (4)		0					0		E. Calle
13/07/2016	tortilla harina (5)		0					0		E. Calle
25/07/2016	totopos (1)		0					0		E. Calle
25/07/2016	totopos (2)		0					0		E. Calle
26/07/2016	totopos (3)		0					0		E. Calle
26/07/2016	totopos (4)		0					0		E. Calle
27/07/2016	totopos (5)		0					0		E. Calle
REVISADO POR: _____										



ANEXO F: Resultados del análisis duplicado del recuento estándar en placa de mohos y levaduras en los alimentos, tortilla de harina, tortilla de maíz y totopos, en la etapa de producto almacenado, elaborados en la fábrica de alimentos Delicias

PRÁCTICAS OPERACIONALES									Código:	BPM -
CONTROL DE MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTO, SUPERFICIES Y AMBIENTES									Revisión:	0
									Vigencia:	
FECHA	MUESTRA	LOTE	REP	S. AUREUS	E. COLI	SALMONELLA	LISTERIA	MOHOS Y LEVADURAS	OBSERVACIONES	ELABORADO POR
04/07/2016	tortilla maíz (1)		0					0		E. Calle
04/07/2016	tortilla maíz (2)		0					0		E. Calle
05/07/2016	tortilla maíz (3)		0					0		E. Calle
05/07/2016	tortilla maíz (4)		0					0		E. Calle
06/07/2016	tortilla maíz (5)		0					0		E. Calle
11/07/2016	tortilla harina (1)		0					0		E. Calle
11/07/2016	tortilla harina (2)		0					0		E. Calle
12/07/2016	tortilla harina (3)		0					0		E. Calle
12/07/2016	tortilla harina (4)		0					0		E. Calle
13/07/2016	tortilla harina (5)		0					0		E. Calle
25/07/2016	totopos (1)		0					0		E. Calle
25/07/2016	totopos (2)		0					0		E. Calle
26/07/2016	totopos (3)		0					0		E. Calle
26/07/2016	totopos (4)		0					0		E. Calle
27/07/2016	totopos (5)		0					0		E. Calle



ANEXO G: Tabla de conversión para el numero más probable de bacterias, sembrando tres tubos por cada inoculación.

TABLA 9221: IV. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATION OF POSITIVE RESULT WHEN FIVE TUBES ARE USED PER DILUTION

Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza		Combinación de tubos positivos			NMP/100mL	Límites de 95% de confianza	
				Inferior	Superior					Inferior	Superior
0	0	0	< 1.8	-	6.8	4	0	3	25	9.8	70
0	0	1	1.8	0.090	6.8	4	1	0	17	6.0	40
0	1	0	1.8	0.090	6.9	4	1	1	21	6.8	42
0	1	1	3.6	0.70	10	4	1	2	26	9.8	70
0	2	0	3.7	0.70	10	4	1	3	31	10	70
0	2	1	5.5	1.8	15	4	2	0	22	6.8	50
0	3	0	5.6	1.8	15	4	2	1	26	9.8	70
1	0	0	2.0	0.10	10	4	2	2	32	10	70
1	0	1	4.0	0.70	10	4	2	3	38	14	100
1	0	2	6.0	1.8	15	4	3	0	27	9.9	70
1	1	0	4.0	0.71	12	4	3	1	33	10	70
1	1	1	6.1	1.8	15	4	3	2	39	14	100
1	1	2	8.1	3.4	22	4	4	0	34	14	100
1	2	0	6.1	1.8	15	4	4	1	40	14	100
1	2	1	8.2	3.4	22	4	4	2	47	15	120
1	3	0	8.3	3.4	22	4	5	0	41	14	100
1	3	1	10	3.5	22	4	5	1	48	15	120
1	4	0	10	3.5	22	5	0	0	23	6.8	70
2	0	0	4.5	0.79	15	5	0	1	31	10	70
2	0	1	6.8	1.8	15	5	0	2	43	14	100
2	0	2	9.1	3.4	22	5	0	3	58	22	150
2	1	0	6.8	1.8	17	5	1	0	33	10	100
2	1	1	9.2	3.4	22	5	1	1	46	14	120
2	1	2	12	4.1	26	5	1	2	63	22	150
2	2	0	9.3	3.4	22	5	1	3	84	34	220
2	2	1	12	4.1	26	5	2	0	49	15	150
2	2	2	14	5.9	36	5	2	1	70	22	170
2	3	0	12	4.1	26	5	2	2	94	34	230
2	3	1	14	5.9	36	5	2	3	120	36	250
2	4	0	15	5.9	36	5	2	4	150	58	400
3	0	0	7.8	2.1	22	5	3	0	79	22	220
3	0	1	11	3.5	23	5	3	1	110	34	250
3	0	2	13	5.6	35	5	3	2	140	52	400
3	1	0	11	3.5	26	5	3	3	170	70	400
3	1	1	14	5.6	36	5	3	4	210	70	400
3	1	2	17	6.0	36	5	4	0	130	36	400
3	2	0	14	5.7	36	5	4	1	170	58	400
3	2	1	17	6.8	40	5	4	2	220	70	440
3	2	2	20	6.8	40	5	4	3	280	100	710
3	3	0	17	6.8	40	5	4	4	350	100	710
3	3	1	21	6.8	40	5	4	5	430	150	1100
3	3	2	24	9.8	70	5	5	0	240	70	710
3	4	0	21	6.8	40	5	5	1	350	100	1100
3	4	1	24	9.8	70	5	5	2	540	150	1700
3	5	0	25	9.8	70	5	5	3	920	220	2600
4	0	0	13	4.1	35	5	5	4	1600	400	4600
4	0	1	17	5.9	36	5	5	5	> 1600	700	-
4	0	2	21	6.8	40						

Fuente: STANDARD METHODS 9221 B. STANDARD TOTAL COLIFORM FERMENTATION TECHNIQUE, JUNE 2003



ANEXO H: Esquema para apunte de resultados para el análisis de coliformes totales y fecales mediante la método del número más probable.

Fecha	N° de muestra	Procedencia de la muestra	Nombre del Analista
06/06/2016	hojilla de maíz (1)	Delicias Maxiconas	Edwin Calle

P. Presuntiva

Fecha de análisis	06	06	2016				
24h	-	-	-	-	-	-	-
48h	-	-	-	-	-	-	-

**P. Confirmatoria
Coliformes Totales**

Fecha de análisis									
24h									
48h									

C.T. NMP/ml

**P. Confirmatoria
Coliformes Fecales**

Fecha de análisis									
24h									

C.F. NMP/ml

**ANEXO I: Extracto de la Norma Oficial Mexicana.**

NORMA Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.

ERNESTO ENRIQUEZ RUBIO, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 34 y 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4o. de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 3o. fracciones XXII y XXIV, 13 apartado A) fracciones I y II, 194 fracción I, 197, 199, 201, 205, 210, 214 y demás aplicables de la Ley General de Salud; 38 fracción II, 39, 40 fracciones I, II, V, XI, XII, 41, 43 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28 y 31 y 34 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 4o., 15, 25, 30, 112 fracción I incisos a) y e), 113 y 116 y demás aplicables del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios; 2 literal C fracción II, 34 y 36 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud; 23 fracciones I y XV del Reglamento Interior de la Secretaría de Economía, y 2 fracciones II y III, 7 fracción XVI, y 11 fracciones I y II del Decreto por el que se crea la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la siguiente Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y Servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.

CONSIDERANDO

Que con fecha 11 de marzo de 1999, en cumplimiento a lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, ahora la Dirección General de Control Sanitario de Productos y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de modificación de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 7 de mayo de 2002, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó el Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1-



2002, Productos y Servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias, en el **Diario Oficial de la Federación**, a efecto de que dentro de los siguientes sesenta días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que con fecha previa fueron publicadas en el **Diario Oficial de la Federación** las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-187-SSA1/SCFI-2002, PRODUCTOS Y SERVICIOS. MASA, TORTILLAS, TOSTADAS Y HARINAS PREPARADAS PARA SU ELABORACION Y ESTABLECIMIENTOS DONDE SE PROCESAN. ESPECIFICACIONES SANITARIAS. INFORMACION COMERCIAL. METODOS DE PRUEBA.

Objetivo y campo de aplicación

Esta Norma Oficial Mexicana tiene por objeto establecer las especificaciones sanitarias que deben cumplir la masa, tortillas, tostadas, harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Asimismo, establece la información comercial que debe figurar en las etiquetas de los productos.



Especificaciones microbiológicas

Tabla 1. Especificaciones microbiológicas para aerobios mesófilos

Producto	Límite máximo de Aerobios mesófilos (UFC/g)
Masa	2000
Tortillas	30
Harinas para preparar tortillas de trigo	150
Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas	100
Harinas integrales para preparar tortillas	500

Tabla 2. Especificaciones microbiológicas para mohos y levaduras

Producto	Límite máximo de mohos y levaduras (UPC/g)
Masa	12
Tortillas de maíz nixtamalizado	<1
Tostadas de maíz nixtamalizado	
Tortillas de trigo	
Tortillas integrales	
Harinas para preparar tortillas de trigo	60
Harinas integrales para preparar tortillas	

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los 180 días naturales contados a partir del día siguiente al de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

Las especificaciones establecidas en el apartado de etiquetado entrarán en vigor en planta a los 180 días naturales contados a partir del día siguiente al de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

México, D.F. El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **Ernesto Enriquez Rubio**.- Rúbrica.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Información Comercial, Seguridad al Usuario y Prácticas de Comercio, **Miguel Aguilar Romo**.- Rúbrica.



ANEXO J: Extracto del Reglamento Técnico Centroamericano. Alimentos: criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos.

ANEXO DE RESOLUCIÓN No. 243-2009

**REGLAMENTO TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA67.04.50:08

**ALIMENTOS. CRITERIOS MIROBIOLÓGICOS PARA LA INOCUIDAD DE
ALIMENTOS**

INFORME

Los respectivos Comités Técnicos de Normalización y de Reglamentación Técnica a través de los Entes de Normalización y de Reglamentación Técnica de los Países de la Región Centroamericana y sucesores, son los organismos encargados de realizar el estudio o la adopción de los Reglamentos Técnicos. Están conformados por representantes de los sectores Académico, Consumidor, Empresa Privada y Gobierno.

Este documento fue aprobado como Reglamento Técnico Centroamericano RCTA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos, por el Subgrupo de Alimentos y Bebidas y el Subgrupo de Medidas de Normalización. La oficialización de este reglamento técnico, conlleva la ratificación por el Consejo de Ministros de Integración Económica Centroamericana (COMIECO).

MIEMBROS PARTICIPANTES

Por Guatemala

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Por El Salvador

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Por Nicaragua

Ministerio de Salud

Por Honduras

Secretaría de salud

Por Costa Rica

Ministerio de Salud



1. OBJETIVO

El presente reglamento tiene como objeto establecer los parámetros microbiológicos de la inocuidad de los alimentos y sus límites de aceptación para el registro y la vigilancia en los puntos de comercialización.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Las aplicaciones del presente reglamento serán aplicables a todoalimento, para consumo final en los puntos de comercialización dentro de los países de la región centroamericana.

3. GRUPO DE ALIMENTOS DE ACUERDO AL ORIGEN Y/O TECNOLOGÍA APLICADA EN SU ELABORACION

Los términos utilizados en las definiciones de los grupos de alimentos de este reglamento han sido definidos con el único propósito de clasificar y agrupar los diferentes tipos de alimentos con fin de establecer los criterios microbiológicos y no aplican para fines de etiquetado en cuanto a denominación del producto.

Grupo 17 Alimentos listos para consumir

- 17.1 Subgrupo del alimento: Alimentos preparados, listos para consumir que no requiere tratamiento térmico
- 17.2 Subgrupo de alimento: Alimentos preparados, listos para consumir que requiere tratamiento térmico
- 17.3 Subgrupo de alimento: Tamales, tortillas(trigo, maíz), pupusas

4. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL REGISTRO SANITARIO DE ALIMENTOS

4.1 En los países de la región centroamericana, en que el procedimiento de registro sanitario de alimentos, requiera realizar que se realicen análisis previos del producto, deberá cumplirse con las siguientes disposiciones:

4.1.1 Se realizarán solo los parámetros microbiológicos definidos en este reglamento, los cuales se expresarán en función de la metodología utilizada con las unidades correspondientes (UFC, NMP).

4.1.2 Solo podrán aceptarse los productos que cumplan con los criterios microbiológicos que se establecen a continuación.

Tabla 1. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA REGISTRO

17.3 Subgrupo de alimento: Tamales, tortillas (trigo, maíz), pupusas						
Parámetro	Plan de muestreo					
	Tipo de riesgo	Clase	n	c	m	M
<i>Escherichia. coli</i>	B	2	5	0	<3NMP	--
<i>Salmonella</i> II a ssp		2		0	Ausencia	--



ANEXO K. Registro fotográfico

Fotografía 1: Pesaje de reactivos



Fotografía 2: Preparación de reactivos



Fotografía 4: Esterilización de materiales y reactivos



Fotografía 5: Tratamiento de la muestra



Laboratorio de prácticas operacionales de la fábrica de alimentos “Delicias Mexicanas” de la ciudad de Cuenca.

Fecha:06/06/2016

Edwin Calle S.



Fotografía 5: Inoculación en placa
Compact dry



Fotografía 6: Inoculación en tubos



Fotografía 7: Incubación de placas y
tubos



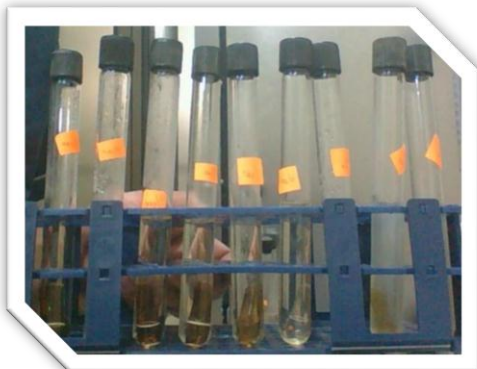
Laboratorio de prácticas operacionales de la fábrica de alimentos “Delicias Mexicanas” de la ciudad de Cuenca.

Fecha:06/06/2016

Edwin Calle S.



Fotografía 8: Prueba negativa para coliformes



Fotografía 9: Prueba positiva para aerobios mesófilos



Laboratorio de prácticas operacionales de la fábrica de alimentos “Delicias Mexicanas” de la ciudad de Cuenca.

Fecha:08/06/2016

Edwin Calle S.